

近江牡蛎核糖体 DNA 片段基因序列 及其分子分类研究^{*}

罗 巍^{1,2}, 邹丽珍², 郑天凌¹, 林荣澄²

(1 厦门大学生命科学院, 福建 厦门 361005; 2 国家海洋局第三海洋研究所、
国家海洋局海洋生物遗传资源重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘要: 本文应用分子系统发育学的方法, 以“白蚝”和“赤蚝”的 18S rDNA、ITS1 和 ITS2 片段序列信息为分子标记, 对它们的分类地位进行了探讨. 综合上述 3 种分子标记的分析结果, 初步认为“白蚝”应属于近江牡蛎, 而“赤蚝”可能不属于近江牡蛎.

关键词: 分子生物学; 片段基因序列; 分子系统发育; 近江牡蛎

中图分类号: Q7

文献标识码: A

文章编号: 1000-8160(2005) 03-0322-08

近江牡蛎是我国主要的牡蛎养殖品种之一, 除了具有重要的经济价值外, 还可以作为海洋重金属和砷等污染的检测生物^[1~3]. 目前我国养殖牡蛎的系统分类仍然存在许多不足, 南方沿海广泛养殖的“白蚝”和“赤蚝”是否都属于近江牡蛎的分类问题是其中比较典型的例子. 近江牡蛎的分类源头可以追溯到美国的博物学家 Gould 首次将它命名为 *Crassostrea rivularis*, 随后在 1861 年 Gould 又将其改名为 *Ostrea rivularis*; 在近江牡蛎引入日本 Ariake 湾后, 日本的 Fujita 于 1913 年又将其命名为 *Ostrea ariakensis*, Amemiya 等 (1928) 认为 *O. rivularis* 是幼年期的 *O. ariakensis*, 因此将之命名为 *Crassostrea ariakensis*, 但是日本的牡蛎分类学专家 Dr. Inaba 认为所谓的 *Ostrea rivularis* 和 *Crassostrea ariakensis* 实际上都表示的是同一种牡蛎, 为了避免混淆, 建议将它们统一称为 *Suminoe oyster*^[4], 但目前仍然有人对此观点持怀疑态度. 在日本, *Suminoe oyster* 的学名一般即为 *Crassostrea ariakensis*, 在中国, 近江牡蛎的学名则一直用 *Crassostrea rivularis*^[5].

近江牡蛎在福建和广东两省广泛养殖, 当地人根据牡蛎软体部的颜色把近江牡蛎分为“白蚝”和“赤蚝”, 可是“白蚝”和“赤蚝”是否都为近江牡蛎, 这是牡蛎分类学上的经典问题. 传统的牡蛎分类主要是基于牡蛎外壳的差异对其进行分类, 但牡蛎贝壳的可塑性强, 常随着生活环境的不同而发生很大的变化, 这给分类带来了困难^[6]. 随后, 一些学者提出以软体部的差异来区分牡蛎, 但大部分的学者认为牡蛎软体部的结构差异很小, 可提供的分类证据少^[6]. 沈亦平等 (1994) 对近江牡蛎染色体核型和多样性进行了研究, 但研究结果表明染色体核型差异

* 收稿日期: 2005-01-28

基金项目: 国家重点基础研究专项经费资助项目 (G2000078500); 中国大洋协会“十五”基金资助项目 (DY105-02-09)

作者简介: 罗巍 (1979~), 男, 硕士研究生.

通讯作者: 林荣澄 (1956~), 男, 研究员, Email: rcl@public.xm.fj.cn

小, 很难作为一个独立的分类标准^[7]. 尽管同工酶电泳技术被应用于研究属间的遗传多样性分析和种群间的种类鉴定^[8-10] 以及纯系品种的鉴定^[11], 但其有效性还存在诸多争议. 近年来, 由于分子标记技术既不受个体形态和趋同进化因素的影响, 又可以揭示物种间的亲缘关系, 越来越受到分类学者的重视. 因此, 将传统的形态学分类与以分子标记技术为基础的分子分类学相结合, 能更好地解决分类学上的问题. 目前, 用于系统发生学研究的分子标记技术主要有基因组的 RFLP、RAPD、AFLP、18S rDNA、28S rDNA、线粒体 16S rDNA 和核糖体的内转录间隔区 ITS(ITS1 和 ITS2) 序列. 其中的 ITS 序列是核糖体中进化较快的 DNA 片段, 能提供丰富的变异位点和信息位点, 可以解决科以下分类阶元的分类问题.

本实验主要应用分子系统发育学的方法, 以 18S rDNA、ITS1 和 ITS2 序列为分子标记, 对“白蚝”和“赤蚝”的分类地位做探讨.

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用“白蚝”和“赤蚝”样品采集于福建龙海白礁近岸潮间带牡蛎养殖场. 选取的样品为形体上具有代表性个体. 从外观上看“白蚝”个体大, 呈三角形, 肉质白; “赤蚝”个体较小, 呈长卵形, 肉质较红 [(图版) 附在刊末].

1.2 方法

1.2.1 模板 DNA 制备 所有牡蛎样品采集回来之后马上在 -20°C 条件下保存, 提取之前取出约绿豆大小的肌肉组织用蒸馏水反复冲洗几次. 模板 DNA 采用小量 PCR 模板制备试剂盒制备^[12]. 扩增采用的引物如下, 其中 ITS1 和 ITS2 的引物参照 Kong (2002) 等的引物^[13], 扩增 18S rDNA 的引物为真核生物的通用引物.

18S rDNA: Forward 5'-GCTTGCTCTCAAAGATTAAGCG-3'

Reverse 5'-TGATCCWKC YGCAGGTTCA G-3'

ITS1 : Forward 5'-GGTTCGTAGGTGAA CCTGC-3'

Reverse 5'-CTGCGTTCTTATCGACCG-3'

ITS2 : Forward 5'-GGGTCGATGAAGAACG CAG-3'

Reverse 5'-GCTCTTCCCG CTTC ACTCG-3'

1.2.2 PCR 扩增 18S rDNA 的扩增条件为: 每次扩增采用 25 mm^3 体系, 反应混合液含有 2 mm^3 模板 DNA, 0.25 mm^3 Taq 酶 (1U/mm³, 购自 TAKATA 公司), 2.5 mm^3 $10\times$ PCR buffer, 2 mm^3 MgCl₂ (25 mmol/dm^3), 2 mm^3 dNTP (2.5 mmol/dm^3), 引物各 0.5 mm^3 ($10\mu\text{mol/dm}^3$). 反应条件为 95°C 预变性 5 min, 40 个循环 (95°C 30s, 52°C 50s, 72°C 2 min), 然后 72°C 延伸 10 min. ITS1 和 ITS2 的扩增条件为: 反应混合液同前, 反应条件为 95°C 预变性 5 min, 35 个循环 (95°C 30s, 55°C 50s, 72°C 50s), 然后 72°C 延伸 10 min. PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色后在紫外光下凝胶成像.

1.2.3 PCR 产物的克隆 首先对 PCR 产物进行切胶纯化 (胶纯化试剂盒, 上海生工), 随后将切胶纯化后的 DNA 片段连接入 T 载体 (TAKARA). 10 mm^3 的连接体系包含 4 mm^3 的 PCR 纯化产物, 1 mm^3 的 T 载体, 5 mm^3 的连接液 (包含 T4 DNA 连接酶, TAKARA). 16°C 连接过夜. 连接产物转化入 100 mm^3 感受态细胞, 在 X-Gal IPTG, Amp 涂布的平板上进行兰白斑筛选, 最

后用菌落 PCR 来检测挑出阳性克隆。

2 结果

2.1 “白蚝”和“赤蚝”基因片段电泳图

与 marker 对照, 扩增产物 18S rDNA 大小在 1.8 kb 左右, ITS1 约 600 bp, ITS2 约 700 bp [(图版) 附在刊末]。

2.2 测序结果

分别对“白蚝”、“赤蚝”(各随机选取两个)的 18S rDNA 和 ITS1 和 ITS2 片段进行了测序, 测序由上海博亚生物技术有限公司完成。测序所得的 18S rDNA 序列为 1788 bp, ITS1 序列为 656~674 bp, ITS2 序列为 711~716 bp。“白蚝”和“赤蚝”18S rDNA 序列只有 14 个碱基差异, ITS1 序列和 ITS2 序列差异较明显。

2.3 系统发育树

在 GenBank 里搜索牡蛎 18S rDNA 序列, 未得到近江牡蛎 18S rDNA 序列。选取牡蛎科的长牡蛎 (*Crassostrea gigas*)、美洲牡蛎 (*C. virginica*)、僧帽牡蛎 (*Saccostrea cucullata*)、鸡冠牡蛎 (*Lopha cristagalli*) 和 *Ostrea edulis* 的 18S rDNA 序列, 以及“白蚝”(BZ18S, B218S) 和“赤蚝”(H118S, H218S) 的序列, 用 Lynnon Biosoft DNAMAN Version 5.01 构建系统发育树 (图 1)。从

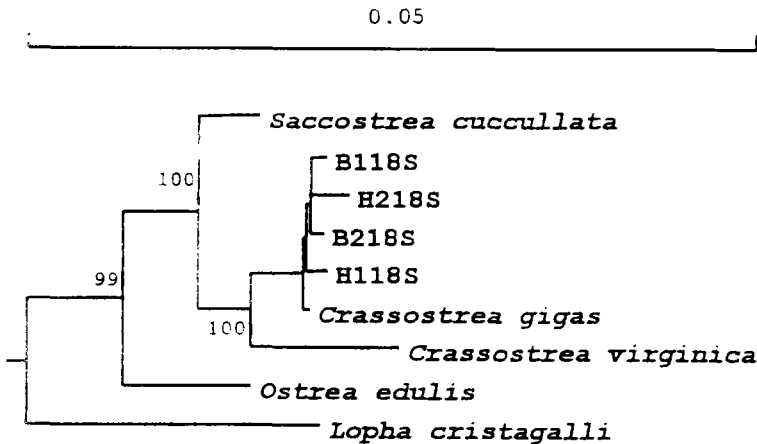


图 1 基于 18S rDNA 序列构建的系统树

Fig 1 A phylogenetic tree based on 18S rDNA sequences

注: BZ, B2 为白蚝, H1, H2 为赤蚝, 下各图同

图中可见“白蚝”和“赤蚝”首先聚类, 而后它们再与长牡蛎聚类。长牡蛎与“白蚝”-“赤蚝”类群之间的遗传距离为 0.001, 美洲牡蛎与长牡蛎-“白蚝”-“赤蚝”类群之间的遗传距离也只有 0.014。因此, 从 18S rDNA 序列差异来看, “赤蚝”和“白蚝”亲缘关系极为接近, 它们与同属的长牡蛎和美洲牡蛎也很接近, 但是与鸡冠牡蛎和 *Ostrea edulis* 的关系较远。

在 GenBank 中搜索牡蛎 ITS1 的序列, 检索到近江牡蛎的 ITS1 序列, 同时选取长牡蛎、日本牡蛎 (*C. nippona*) 和 *Saccostrea commercialis* 的 ITS1 序列, 并结合白蚝 (B2ITS1) 与赤蚝 (H2ITS1) 的序列, 用 Lynnon Biosoft DNAMAN Version 5.01 构建系统发育树 (图 2)。“白蚝”和

近江牡蛎首先聚类, 遗传距离为 0.024, 而“赤蚝”与“白蚝”-近江牡蛎类群聚类, 遗传距离为 0.045。从系统发育树可见, “白蚝”比“赤蚝”在亲缘关系上更接近网上检索到的近江牡蛎。“白蚝”-“赤蚝”-近江牡蛎类群与日本牡蛎的遗传距离为 0.102, “白蚝”-“赤蚝”-近江牡蛎-日本牡蛎类群与长牡蛎的遗传距离则为 0.132。因此, ITS1 序列能较好地地区分巨蛎属 (*Crassostrea*) 的牡蛎。

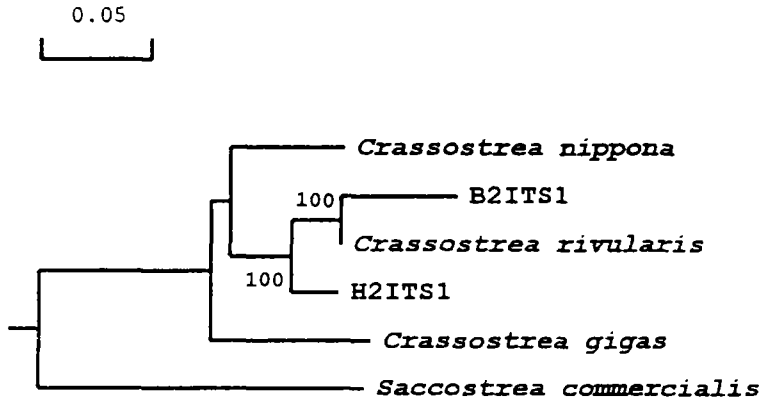


图 2 基于 ITS1 序列构建的系统树

Fig. 2 A phylogenetic tree based on ITS1 sequences

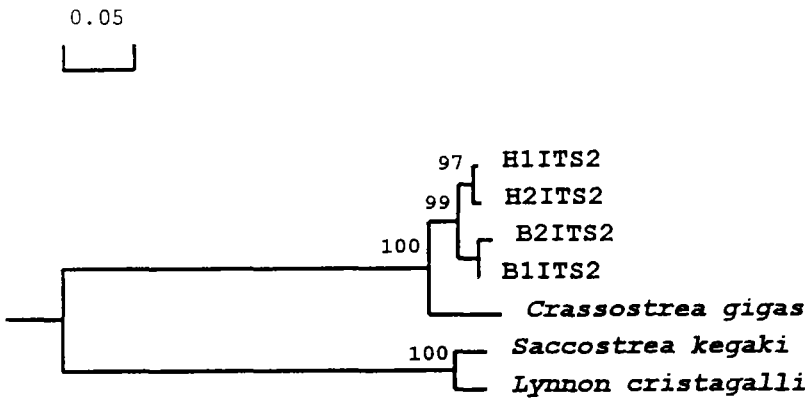


图 3 基于 ITS2 序列构建的系统树

Fig. 3 A phylogenetic tree based on ITS2 sequences

在 GenBank 中搜索牡蛎 ITS2 序列, 未得到近江牡蛎 ITS2 序列。选取长牡蛎、鸡冠牡蛎和 *Saccostrea kegaki* 的 ITS2 序列, 结合“白蚝”与“赤蚝”的 ITS2 序列, 用 Lynnon Biosoft DNAMAN Version 5.01 构建系统发育树 (图 3)。“白蚝”与“赤蚝”之间的遗传距离为 0.026, “白蚝”-“赤蚝”类群与长牡蛎之间的遗传距离为 0.096, 而“白蚝”-“赤蚝”-长牡蛎类群和鸡冠牡蛎-*Saccostrea kegaki* 类群之间的遗传距离则明显大得多。该系统树显示“赤蚝”和“白蚝”尽管亲缘关系较近, 但还是存在一定的差异。

3 讨论

一般认为,近江牡蛎壳大,坚厚,呈圆形、卵圆形、三角形或长卵形不等,背腹缘八字形。右壳较左壳小,略扁平,壳外面同心状鳞片环生,幼体鳞片薄而脆;多年生长后鳞片完整层层叠,坚厚,壳面有灰、青、紫、棕等色彩,壳内面白色,有的边缘具灰紫色,无齿;闭壳肌痕大,位于壳的中部背侧,肾形或半圆形,紫黑色。左壳坚厚,鳞片与右壳类似,但层次较少,壳内面白色,有的边缘呈灰紫色,韧带槽长而阔,长度约为全壳的 $1/6$ 至 $1/4$ ^[14]。本实验所取样品与此描述相符,因此,从外观上看,“赤蚝”和“白蚝”似乎都属于近江牡蛎。

从分子系统学方面看,实验结果表明所测样品的 18S rDNA 序列的同源性为 99.6% 以上,同时它们和 GenBank 上检索到的其它同属的长牡蛎、美洲牡蛎的序列同源性也都很高 (98.4% 以上);但是通过 ITS1 建立的系统树显示“白蚝”与网上检索得到的近江牡蛎亲缘关系近,而“赤蚝”与网上检索得到的近江牡蛎的亲缘关系较远。基于 ITS2 序列建立的系统树表明“赤蚝”和“白蚝”之间有所差别,遗传距离为 0.026。综合上述 3 种分子标记的分析结果,初步认为“白蚝”可能属于近江牡蛎,“赤蚝”则可能不属于近江牡蛎。至于“赤蚝”的分类地位,由于目前 GenBank 上检索得到的序列有限,还有待于进一步的研究。

李孝绪和齐钟彦 (1994) 把比较解剖学引进牡蛎的分类,将我国的牡蛎分为 15 种,并认为广东养殖的“赤蚝”和“白蚝”属于不同的 2 个种,但未能完全解决其种名问题^[15]。关云凌 (1990) 借助聚丙烯酰胺凝胶电泳的方法,对我国养殖牡蛎的酯酶同工酶谱特征进行分析比较,比较了不同种类牡蛎的酶谱特征,提出“白蚝”属于近江牡蛎,而“赤蚝”不属于近江牡蛎的观点^[16]。Li 等 (1988) 也认为“赤蚝”和“白蚝”存在差异,且认为它们属于不同的种^[17]。本实验所得初步结果从分子水平上支持了上述的观点。

此外,本实验发现应用 18S rDNA 系列差异不能很好地区分巨蛎属的牡蛎,“白蚝”和“赤蚝”18S rDNA 系列之间的同源性大于 99.6%,它们与长牡蛎的遗传距离也仅为 0.001。这可能是 18S rDNA 序列过于保守,以至于分类阶元非常接近的物种难以用这个分子标记加以区分。David (1995) 认为 18S rDNA 可以区分 Rhabditidae 科水平线虫,但不能解决种间的分类问题 (如 *Caenorhabditis* spp.)^[18]。而 ITS 序列是核基因组中进化较快的 DNA 片段,可以提供较丰富的变异位点和信息位点,且序列相对较短,在核基因组中高度重复,测序方便。因此,实验采用 ITS 片段 (ITS1 和 ITS2) 作为另一个分子标记加以验证。实验证明 ITS1 和 ITS2 序列是比较理想的分子标记。喻子牛等 (2001) 对栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 的研究,发现 ITS1、ITS2 这两个变异性较大的序列在扇贝种群中应用潜力很大,可广泛用于种内群体间遗传变异研究、种质鉴别及系统学研究^[19]。在牡蛎系统学研究中的分子标记还有 16S rDNA (线粒体 DNA)^[20, 21]、28S rDNA^[22] 序列和 COI (细胞色素氧化酶亚单位) 序列^[23, 24]。因此在日后研究中应尽可能地多结合几个不同的分子标记来确定样品的分类地位。

由于牡蛎的巨大经济价值,牡蛎的分类学研究对于搞清楚养殖牡蛎的种质资源是十分必要的。目前发生在自然界的牡蛎天然品种杂交现象十分普遍,这种天然的杂交对于养殖的影响还不得而知,但这可能会造成种质退化。当今海洋环境的污染也在愈演愈烈,这就要求人们在现阶段要充分了解我国养殖牡蛎的种质资源,如果有可能还应当建立种质库,包括品种的形态学和分子信息,以便将来能够准确掌握种质的变化情况。此外,过度捕捞和天然病害有可能极大地威胁到牡蛎养殖的安全,美国切萨皮克湾的牡蛎年产量锐减,对当地的经济和环境都造成

影响的例子^[25]引以为鉴. 从 1995 年起美国科学家就开始寻找一个合适的外来品种以改善切萨皮克湾牡蛎数量巨减的状况. 他们首先考虑的是长牡蛎, 但是经过实验证实其生长情况、抗病性和口感并不理想^[26]. 目前美国学者正在积极研究将近江牡蛎引种到美国切萨皮克湾的可能性^[27]. 初步的研究表明它生长速度快于美洲牡蛎, 抗病性更强, 并且口感很好^[28~30]. 上述事实充分说明了中国目前的资源优势, 同时也为人们敲响了保护种质资源的警钟. 应该看到, 目前在中国针对养殖性牡蛎的发育系统的研究还很不完善, 尤其在分子水平上还有大量的空白需要填补.

参考文献:

- [1] 陆超华, 周国君, 谢文造. 近江牡蛎对 Pb 的累积和排出 [J]. 海洋环境科学, 1999, 18(1): 33~38
- [2] 贾晓平, 蔡文贵, 林钦, 等. 广东沿海近江牡蛎砷含量水平、地理分布特点和变化趋势 [J]. 中国水产科学, 1999, 6(2): 97~100
- [3] Ke C H, Wang W X. Bioaccumulation of Cd, Se and Zn in an estuarine oyster (*Crassostrea rivularis*) and a coastal oyster (*Saccostrea glomerata*) [J]. Aquat Toxicol, 2001, 56(1): 33~51
- [4] Aquaculture Information Center/doc/noaa. Published research and related internet locations on the Asian Oyster, *Crassostrea ariakensis* [DB/OL]. <http://www.fh.noaa.gov/doc/aqua/oyster.htm> 2005-05-16
- [5] Blankenship K. Many are called *ariakensis* but only one oyster species will be chosen [J]. Bay Journal 2004, 14(8).
- [6] 阙华勇, 刘晓, 王海艳, 等. 中国近海牡蛎系统分类研究的现状和对策 [J]. 动物学杂志, 2003, 38(4): 110~113
- [7] 沈亦平, 刘汀, 姜海波, 等. 近江牡蛎染色体核型的研究 [J]. 武汉大学学报 (自然科学版), 1994, (4): 102~106
- [8] Hedgecock D, Okazaki N B. Genetic diversity within and between populations of American oysters (*Crassostrea*) [J]. Malacologia, 1984, 25: 535~549
- [9] Buraker N E, Hershberger W K, Chew K K. Population genetics of the family Ostreidae I: intraspecific studies of *Crassostrea gigas* and *Saccostrea commercialis* [J]. Mar Biol, 1979, 54: 157~169
- [10] Buraker N E, Hershberger W K, Chew K K. Population genetics of the family Ostreidae II: interspecific studies of the genera *Crassostrea* and *Saccostrea* [J]. Mar Biol, 1979, 54: 171~184
- [11] 黄勤. 近江牡蛎与太平洋牡蛎的同工酶鉴别 [J]. 台湾海峡, 2004, 23(3): 323~330
- [12] 徐丽美, 王伟, 杨丰. 对虾白斑杆状病毒定量 PCR 技术研究 [J]. 高技术通讯, 2001, 1(1): 14~16
- [13] 孔晓瑜, 张留所, 喻子牛, 等. 太平洋牡蛎核糖体 DNA 转录间隔子和线粒体基因片段序列测定 [J]. 中国水产科学, 2002, 9(4): 304~308
- [14] 李超美, 陈友爱. 福建药用牡蛎品种来源及其药材性状的比较鉴别 [J]. 海峡药学, 2000, 12(2): 50~51
- [15] 李孝绪, 齐钟彦. 中国牡蛎的比较解剖学及系统分类和演化的研究 [J]. 海洋科学集刊, 1994, (35): 143~178
- [16] 关云凌. 我国牡蛎养殖种类的酯酶同工酶的比较研究 [J]. 南海水产研究, 1990, (2): 32~35
- [17] Li G, Hu Y, Qing N. Population gene pools of large-size cultivated oyster (*Crassostrea*) along the Guangdong and Fujian coast of China [A]. Morton B. Proc On Marine Biology of South China Sea [M]. Beijing: China Ocean press, 1988: 51~70
- [18] Fitch D H A, Bugaj-Gaweda B, Emmons S W. 18S ribosomal RNA gene phylogeny for some rhabditidae re-

lated to *Caenorhabditis* [J]. *Mol Biol Evo* 1995 12(12): 346~ 358

- [19] 喻子牛, 孔晓瑜, 庄志猛, 等. 栉孔扇贝核糖体 DNA 转录间隔子序列研究及其潜在应用 [J]. 中国水产科学, 2001, 8(1): 6~ 9
- [20] Kim SH, Park M S, Kim YH, *et al*. Genetic analysis of mitochondrial DNA from Korean oysters *Crassostrea gigas* [J]. *Journal of the Korean Fisheries Society*, 1997, 30: 804~ 808
- [21] Lapegue S, Boutet I, Leita A, *et al*. Trans-atlantic distribution of a mangrove oyster species revealed by 16S mtDNA and karyological analyses [J]. *Biological Bulletin (Woods Hole)*, 2002, 202(3): 232~ 242
- [22] Littlewood D T. Molecular phylogenetics of cupped oyster base on partial 28S rRNA gene sequences [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1994, 3(3): 221~ 229
- [23] Pierre B, Heurtebise S, Lapegue S. Mitochondrial and nuclear DNA sequence variation of presumed *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata* specimens: a new oyster species in Hong Kong [J]. *Aquaculture*, 2003, 228: 15~ 25
- [24] Katherine L, Morton B. Mitochondrial DNA and morphological identification of a new species of *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) cultured for centuries in the Pearl River Delta, Hongkong, China [J]. *Aquaculture*, 2003, 228: 1~ 13
- [25] Ewart JW, Ford S E. History and Impact of MSX and Demodiseases on Oyster Stocks in the Northeast Region [R]. Massachusetts Northeastern Regional Aquaculture Center Extension Publication 1993 No. 200. 8
- [26] Xing G, DeBrosse G A, Allen SK. A triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids [J]. *Aquaculture*, 1996, 142: 149~ 161
- [27] Committee on non-native oysters in the Chesapeake Bay. Non-native Oysters in the Chesapeake Bay [R]. Washington: National Academies Press, 2004: 248
- [28] Langdon C J, Robinson A M. Aquaculture potential of the Suminoe oyster (*Crassostrea ariakensis* Fugita 1913) [J]. *Aquaculture*, 1996, 144: 321~ 338
- [29] Calvo G W, Luckenbach M W, Allen SK, *et al*. A comparative field study of *Crassostrea gigas* and *Crassostrea virginica* in relation to salinity in Virginia [J]. *Shellfish Res*, 1999, 18: 465~ 473
- [30] Robinson A M, Langdon C J. Development of the commercial aquaculture of the Suminoe oyster (*Crassostrea rivularis*) [J]. *Journal of Shellfish Research*, 1992, 11: 556

Phylogenetic analysis of *Crassostrea rivularis* based sequences of DNA segments

LUO Wei^{1, 2}, ZOU Lichen², ZHENG Tian-ling¹, LIN Rong-cheng²

(1. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. Third Institute of Oceanography, SOA / Key Lab of Marine Biogenetic Resources, SOA, Xiamen 361005, China)

Abstract There are still lots of problems in the systematic taxonomy of oysters in China. Among them, whether the widely bred “white oyster” and “red oyster” in Southern China are the same spe-

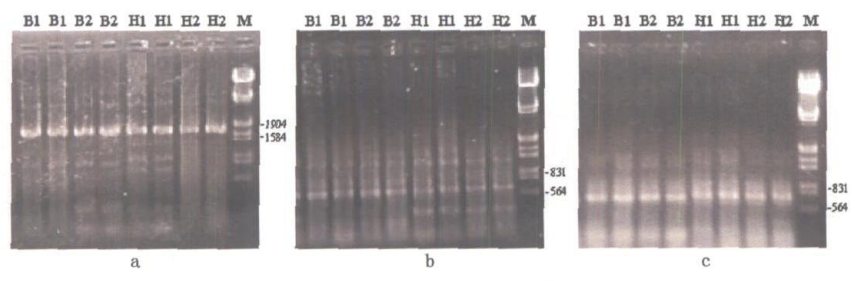
cies of *Crassostrea rivularis* is to be revealed. We amplified the 18S rDNA sequences ITS1 and ITS2 sequences of the “white oyster” and the “red oyster” respectively and take them as molecular marks for molecular phylogenetic analysis. The preliminary results show that the “white oyster” should belong to *Crassostrea rivularis* and the “red oyster” probably belongs to the other species.

Key words: molecular biology; DNA partial sequences; phylogenesis; *Crassostrea rivularis*

罗 巍等：近江牡蛎核糖体 DNA 片段基因序列及其分子分类研究



图版 I “白蚝”和“赤蚝”软体部外观图
Plate I Soft tissue of “white oyster” and “red oyster”



图版 II “赤蚝”和“白蚝”18S rDNA、ITS1 和 ITS2 片段电泳图
Plate II Electrophoresis of 18S rDNA, ITS1 and ITS2 fragment

a. 18S rDNA, b. ITS1, c. ITS2, B. 白蚝, H. 赤蚝